

Pengujian Toksisitas Sub Akut Ekstrak Hipokotil Bakau Hitam pada Tikus Galur *Sprague Dawley*

*Sub-Acute Toxicity Test of Black Mangrove Hipocotyls Extractat
to Rats Sprague Dawley strain*

Sri Purwaningsih, Ekowati Handharyan, dan Indah Ria Lestari

Departemen Teknologi Hasil Perikanan
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Institut Pertanian Bogor
Jl. Agatis Kampus IPB Dramaga 16680

Abstrak

Hipokotil buah mangrove hitam (*R.mucronata*) telah terbukti mempunyai efek yang baik pada jaringan hati secara biokimia dan gambaran histopathologi pada dosis 5 mg/kg pada tikus galur *Sprague Dawley*. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan efek toksisitas secara sub-akut dari ekstrak hipokotil buah mangrove hitam (*R.mucronata*) pada tikus dengan dosis 0; 15; 105 mg/kg berat badan. Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah rancangan acak lengkap dengan uji lanjut Duncan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak tidak menyebabkan penurunan berat badan dan kematian tikus. Hasil analisis secara biokimia pada darah untuk SGPT, total bilirubin, BUN, dan kreatinin masih dalam batas normal. Gambaran secara histopathologi menunjukkan bahwa terjadi perubahan di jaringan ginjal pada dosis 105 mg/kg berat badan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dosis 15 mg/kg dari ekstrak hipokotil buah mangrove hitam (*R.mucronata*) dianggap aman sebagai nutrasetika.

Kata kunci: buah bakau (*R.mucronata*), sub-akut, toksisitas

Abstract

The extract of Black mangrove (*R.mucronata*) hipocotyls had good effect on liver tissue in the biochemical and histopathological with dose 5 mg/kg at rats *Sprague Dawley* strain. The research was to determine sub-acute toxicity effect of extract from *R.mucronata* hipocotyls to rats with doses 0; 15; 105 mg/kg body weight. The experimental design used in this experiment was complete random design with Duncan test. The results of the sub-acute study showed this extract did not cause death and weight loss. The results of biochemical analysis in the blood levels of SGOT, SGPT, total bilirubin, BUN, and creatinine are within normal limits. The histopathological examination of liver and kidneys showed the morphological change at dose 105 mg/kg body weight. These results suggest that the dose 15 mg/kg extracts of *R.mucronata* hipocotyls can be considered safe as a nutraceutical.

Keywords: *Rhizophora mucronata*, sub-acute, toxicity.

Pendahuluan

Menurut WHO (2012), secara epidemiologis Indonesia termasuk daerah endemik sedang sampai tinggi hepatitis B di dunia. Orang yang terinfeksi virus hepatitis B sekitar 300-350 juta dan 78% diantaranya ada di Asia. Orang terinfeksi hepatitis C berjumlah 170 juta dengan angka kematian lebih dari 350 ribu per tahun.

Sampai saat ini belum ada obat alami yang mampu mengobati penyakit hati secara sempurna. Harga obat yang mahal juga masih menjadi kendala utama dalam pengobatan penyakit hati. Salah satu harapan sumber alternatif hepatoprotektif alami baru adalah hipokotil buah bakau hitam (*Rhizophora mucronata*). Hasil penelitian Purwaningsih *et al.* (2012), menunjukkan bahwa buah bakau memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi dengan nilai IC_{50} yaitu sebesar 58,61 ppm. Penelitian lanjut dari Purwaningsih *et al.* (2013a), bahwa ekstraksi hipokotil buah bakau hitam (*Rhizophora mucronata*) pada suhu 70° C menghasilkan aktivitas antioksidan sangat tinggi dengan nilai IC_{50} sebesar 0.72 ppm bahkan lebih besar dari pada antioksidan standar yaitu Vitamin C yang hanya sebesar 4.81 ppm.

Menurut Priyatno (2012), buah bakau hitam mengandung flavonoid, triterpenoid, tanin, dan alkaloid. Menurut Ravikumar dan Gnanadesigan (2012) menyatakan bahwa kehadiran senyawa kimia seperti flavonoid, triterpenoid, tanin, dan alkaloid yang ada pada buah bakau memungkinkan adanya mekanisme hepatoprotektif dengan melakukan penghambatan sitokrom P450 dalam metabolisme pembentukan radikal bebas triklorometil.

Penggunaan bahan alami untuk kesehatan di Indonesia telah berkembang sangat pesat. Manusia mulai menyadari akan pentingnya penggunaan bahan-bahan alami untuk proses pengobatan. Berbagai obat-obatan alternatif kini dipilih sebagai pengobatan yang lebih aman daripada pengobatan dengan obat-obat berbahan kimia. Suganthi *et al.* (2014) menyatakan

tumbuhan *rhizophora* telah dijadikan sebagai obat alami di kawasan timur dan selatan Asia. Umumnya tumbuhan mangrove yang banyak tumbuh di daerah tropis dan subtropis adalah *Rhizophora mucronata*, *Rhizophora apiculata*, dan *Rhizophora mangle*.

Hasil penelitian Sukarno (2014) menunjukkan ekstrak etanol buah bakau *R. mucronata* memiliki aktivitas hepatoprotektor pada dosis 5 mg/kg BB tikus. Menurut Purwaningsih *et al.* (2013b), menyatakan bahwa ekstrak buah bakau *Rhizophora mucronata* yang telah dijadikan sebagai sirup memiliki dosis efektif pada dosis 15 mg/kg BB tikus. Nilai antioksidan yang tinggi pada suatu bahan dinyatakan dapat menjadi senyawa antioksidan, antihepatotoksik, dan antihiperglikemik yang dapat mencegah berbagai penyakit degeneratif.

Penggunaan hipokotil buah bakau (*R. mucronata*) yang telah dilakukan pada penelitian terdahulu belum mencakup pengujian toksisitas ekstrak bahan. Pengembangan suatu bahan menjadi suatu produk tentunya memerlukan evaluasi keamanan untuk menentukan batas pajanan yang aman atau penilaian resiko. Hasil penelitian mengenai uji toksisitas dapat mempengaruhi *No Observed Effect Level* (NOEL) zat itu sendiri serta ukuran faktor pengaman yang dipakai untuk mencapai *Acceptable Daily Intake* (ADI).

Obat-obatan alami telah banyak digunakan oleh masyarakat sebagai obat yang diyakini dapat memulihkan kesehatan manusia dari berbagai macam penyakit serta tidak memiliki efek samping. Senyawa kimia dari obat herbal dapat saja tidak memiliki efek toksik bagi tumbuhan tersebut, namun belum tentu pada manusia (Arsad *et al.* 2014).

Pengujian mengenai toksisitas dapat dilakukan dengan berbagai cara, salah satunya dengan uji toksisitas sub-akut. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan efek toksisitas secara sub-akut dari ekstrak hipokotil buah mangrove hitam (*R. mucronata*) secara pada tikus dengan

dosis 0; 15;105 mg/kg berat badan pada tikus dengan galur *Sprague Dawley*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan khasana informasi mengenai keamanan ekstrak buah bakau *Rhizophora mucronata* dan efek sampingnya terhadap tubuh hewan uji, serta dapat dijadikan dasar pengembangan tumbuhan mangrove di Indonesia.

Bahan dan Metode

Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan pada penelitian ini adalah buah bakau (*Rhizophora mucronata*), diambil dari Taman Konservasi Mangrove, Pantai Indah Kapuk, Jakarta. Bahan-bahan yang digunakan dalam uji toksisitas secara *in vivo* adalah akuades, paraffin, NaCl fisiologis, buffer neutral formalin 10%, xilol, hematoksin-eosin (HE), buffer fosfat, kalium klorida, asam klorida (HCl), trikloroasetat, butilhidroksitoluen, asam tiobarbiturat, asam klorida, tetraetoksipropena.

Alat-alat yang diperlukan dalam penelitian ini meliputi jangka timbangan digital, mikrotom Yamato RV-240, gelas obyek, mikroskop cahaya Olympus tipe CH20 dan kamera mikroskop Olympus DP12, *aluminium foil*, orbital shaker, vakum rotari evaporator, EpochTM *Spectrophotometer*, setrifuse dingin *Mira Lab*, Kit AMP diagnostic®.

Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di beberapa laboratorium, yaitu Laboratorium Biokimia Hasil Perairan, Departemen Teknologi Hasil Perairan untuk preparasi, karakterisasi, ekstraksi, dan analisis fitokimia. Pengujian toksisitas ekstrak hipokotil buah bakau (*Rhizophora mucronata*) secara *in vivo* dilakukan di rumah sakit hewan IPB, Laboratorium Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor. Analisis biokimia darah dilakukan di laboratorium klinik Pusat Studi Satwa Primata (PSSP), Bogor.

Metode Penelitian

Analisis yang dilakukan pada penelitian ini meliputi analisis kadar bilirubin total, *Glutamat Oksaloasetat Transaminase* (SGOT), dan *Glutamat Piruvat Transaminase* (SGPT), *Blood Urea Nitrogen* (BUN) dan kreatinin (Panjaitan, 2007), gambaran histopathologi (Kiernan, 1990).

Pengujian toksisitas dilakukan secara *in vivo* menggunakan hewan uji, yaitu tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague Dawley* dengan berat \pm 200 g yang diperoleh dari Balai Besar Penelitian Veteriner, Bogor. Hewan uji diaklimatisasi selama sepuluh hari, diberi pakan komersial standar dan minum *ad libitum*.

Hewan uji ditimbang dan dikelompokkan menjadi 3 kelompok (n=3) dalam kandang terpisah pada hari terakhir masa adaptasi. Hewan uji yang telah dikelompokkan akan diberikan ekstrak hipokotil buah bakau *R. mucronata* dengan dosis berulang selama 28 hari. Kelompok perlakuan adalah sebagai berikut:

- Kelompok A : Tikus kontrol diberikan akuades secara oral
- Kelompok B : Tikus diberikan ekstrak bakau dosis 15 mg/kg BB secara oral
- Kelompok C : Tikus diberikan ekstrak buah bakau dosis 105 mg/kg BB secara oral

Hari ke-29 pada semua tikus dilakukan pengambilan sampel darah dari jantung untuk mendapatkan serum darah untuk dianalisis dengan cara melakukan *eutisasi intraperitoneal*.

Analisis Data

Data hasil analisis biokimia darah tikus terlebih dahulu diuji kenormalan galat dengan uji Anderson-Darling. Data selanjutnya dianalisis dengan analisis ragam (*Analysis of Variant*) menggunakan model rancangan acak lengkap, jika hasil uji memberikan pengaruh

nyata, maka dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan (Steel dan Torrie 1993).

Hasil dan Pembahasan

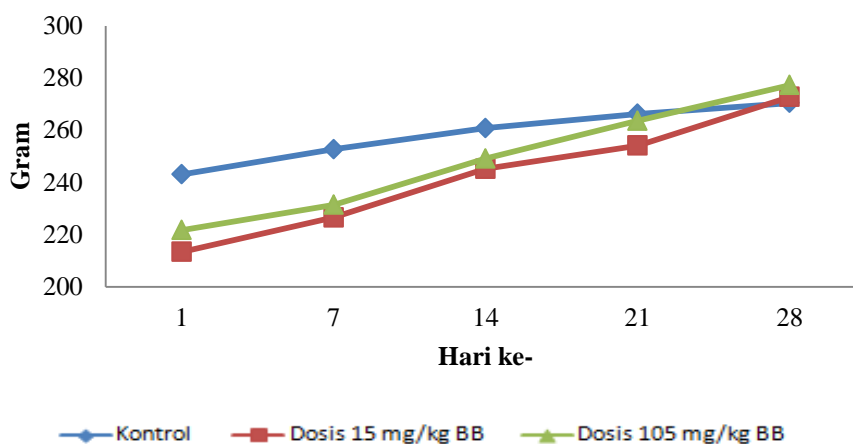
Kondisi Fisik Tikus

Pengamatan tingkah laku hewan uji dimulai dari hari ke-0 hingga hari ke-28. Pengamatan dilakukan dengan membandingkan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak ada kematian hewan uji pada semua perlakuan. Tidak ditemukan adanya tingkah laku yang berbeda antar kelompok perlakuan. Semua hewan uji terlihat sehat, aktif, dan tidak ada tanda-tanda keracunan. Hewan uji merespon makanan dan minuman dan terlihat bermain dengan yang lain.

Pengamatan berat badan hewan uji dilakukan setiap dua hari sekali pada masa

aklimatisasi dan setiap tujuh hari pada masa pemberian dosis. Data berat badan hewan uji selama masa aklimatisasi menunjukkan kenaikan bobot tikus rata-rata. Kenaikan bobot tikus setiap kelompoknya terlihat tidak jauh berbeda. Perlakuan kontrol mengalami rata-rata kenaikan bobot sebesar 25g, sedangkan rata-rata kenaikan kelompok dosis 15 mg/kg BB sebesar 23g, dan kelompok dosis 105 mg/kg BB naik sebesar 28g.

Pengamatan bobot hewan uji selama masa pemberian dosis dilakukan pada hari ke-0, ke-7, ke-14, ke-21, dan hari ke-28. Hasil penimbangan bobot rata-rata hewan uji setiap minggunya menunjukkan kenaikan. Gambar 1 menunjukkan grafik rata-rata berat badan tikus selama penelitian.



Gambar 1. Rata-rata berat badan tikus selama pemberian ekstrak.
Figure 1. The average of rats body weight during the treatment

Gambar 1 menunjukkan kelompok hewan uji kontrol memiliki rata-rata kenaikan sebanyak 27g, kelompok dosis 15 mg/kg BB adalah 58g, dan kelompok dosis 105 mg/kg BB adalah 55g. Rata-rata kenaikan berat badan tikus yang diberikan perlakuan mengalami kenaikan dua kali lipat. Kenaikan berat badan tikus akibat pemberian ekstrak buah bakau pada dosis 15 mg/kg BB dan 105 mg/kg BB diduga dapat berfungsi sebagai imunostimulan. Menurut Nugroho (2012), imunostimulan merupakan cara memperbaiki fungsi sistem imun dengan

menggunakan bahan yang merangsang sistem tersebut. Sistem imun yang baik akan meningkatkan daya tahan tubuh terhadap penyakit, sehingga kesehatan tubuh akan tetap terjaga.

Sistem imun adalah suatu sistem pertahanan tubuh yang kompleks yang memberikan perlindungan terhadap adanya invasi zat-zat asing ke dalam tubuh (Radji, 2010). Pemberian ekstrak buah bakau diduga dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh hewan coba sehingga daya cerna pakan akan meningkat dan berkolerasi dengan peningkatan berat badan.

Ekstrak etanol buah bakau hitam diketahui memiliki kandungan flavonoid yang terdapat didalamnya. Hasil penelitian Adnin (2014), total flavonoid yang terkandung dalam ekstrak buah bakau adalah 0.51% (b/b). Nugroho (2012) menyatakan, flavonoid berpotensi bekerja terhadap limfokin yang dihasilkan oleh sel T sehingga akan merangsang sel-sel fagosit untuk melakukan respon fagositosis.

Kadar Biokimia Darah

Pengujian toksisitas sub akut dilakukan untuk mengetahui efek kumulatif pemberian ekstrak hipokotil buah bakau *R.mucronata* selama 28 hari terhadap organ hati dan ginjal hewan uji. Hati dan ginjal merupakan organ sasaran yang umum digunakan dalam uji toksisitas. Hati terlibat dalam metabolisme zat makanan serta sebagian besar obat dan toksikan. Menurut Bigoniya *et al.* (2009), hati adalah organ terbesar dan secara metabolisme paling kompleks di dalam tubuh.

Ginjal memiliki fungsi membuang hasil metabolisme normal dan senyawa xenobiotik yang tidak dibutuhkan tubuh. Urin adalah jalur utama ekskresi sebagian besar zat toksik. Akibatnya, ginjal mempunyai volume aliran darah yang tinggi, mengkonsentrasi toksikan pada filtrat, membawa toksikan melalui tubulus, dan mengaktifkan toksikan tertentu (Lu, 1995).

Organ sasaran yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu organ hati dan ginjal tikus percobaan. Analisis kerusakan hati dan ginjal dilakukan pada serum darah dan histologi organ hati dan ginjal tikus. Serum merupakan cairan darah yang sudah tidak memiliki komponen protein pengumpul darah yaitu fibrinogen, meskipun demikian serum tetap memiliki komponen lain seperti enzim, protein albumin dan globulin, mineral, urea, kreatinin, dan lain-lain (Syabana, 2010). Hasil uji serum darah kadar SGOT, SGPT, bilirubin total, BUN, dan kreatinin disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Rataan kadar SGOT, SGPT, bilirubin total, BUN, dan kreatinin dalam serum tikus strain *Sprague Dawley*

Table 1. Mean levels of SGOT, SGPT, total bilirubin, BUN, and creatinine in the rat serum of *Sprague-Dawley* strain

Parameter	Dosis ekstrak buah <i>Rhizophora mucronata</i> (mg/kg BB)		
	0	15	105
SGOT (U/l)	207.67 ± 27.02	204.67 ± 20.47	203.33 ± 21.87
SGPT (U/l)	90.33 ± 14.05	83.00 ± 7.81	91.00 ± 9.54
BUN (mg/dl)	23 ± 1.73	27.67 ± 6.35	29.33 ± 5.69
Kreatinin (mg/dl)	0.81 ± 0.11	0.74 ± 0.03	0.81 ± 0.06
Bilirubin Total (mg/dl)	0.22 ± 0.08	0.21 ± 0.07	0.16 ± 0.04

Menurut Bigoniya *et al.* (2009), perubahan kadar enzim SGOT dan SGPT menunjukkan indikasi kerusakan hati. Hasil uji statistik ($\alpha = 0.05$) menunjukkan bahwa dosis ekstrak buah bakau hitam tidak memberikan pengaruh terhadap kadar enzim SGOT dan SGPT. Dari Tabel 1 menunjukkan bahwa nilai rata-rata kadar enzim SGOT dan SGPT masih pada tarap normal. Menurut hasil penelitian Panjaitan *et al.* (2007), hewan uji kelompok kontrol

memiliki kadar enzim SGOT dan SGPT masing-masing 330.87 U/l dan 134.57 U/l. Petterino dan Storino (2006) menyatakan, rata-rata kadar enzim SGOT pada tikus *Sprague dawley* dalam kondisi normal (tanpa perlakuan) memiliki nilai maksimum 201.89 U/l dan nilai minimum 56.1 U/l, sedangkan nilai maksimum kadar enzim SGPT 218.1 U/l dan nilai minimum 34.9 U/l.

Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase (SGOT) merupakan enzim yang tersebar diberbagai jaringan jantung, ginjal, dan otak. SGOT terdapat dalam mitokondria dan sebagian kecil di sitosol. *Serum glutamic pyruvic transaminase* (SGPT) adalah enzim yang dibuat dalam sel hati (hepatosit), sehingga lebih spesifik digunakan sebagai indikasi adanya penyakit hati dibandingkan dengan enzim lain. Enzim ini akan mengalami kenaikan jika terjadi kerusakan hati.

Enzim SGOT kurang peka terhadap indikator kerusakan hati, karena enzim ini juga mengikat pada kerusakan organ lain. Hal ini sejalan dengan pernyataan Bigoniya *et al.* (2009), kadar enzim SGPT lebih spesifik untuk menggambarkan tingkat kerusakan hati, namun peningkatan kadar enzim SGOT dapat meningkat pada nekrosis akut atau ichemia pada organ lain seperti mitokondria.

Kadar serum SGOT dan SGPT yang tidak berbeda nyata antara kelompok tikus kontrol dan kelompok tikus yang diberikan ekstrak buah bakau *R.mucronata*, mengindikasikan bahwa ekstrak buah bakau tidak mengandung senyawa yang menimbulkan efek toksik, dan tidak menimbulkan kerusakan sel hepatosit. Apabila terjadi kerusakan sel yang parah maka akan terjadi kenaikan kadar SGPT dan SGOT secara bersamaan sampai dengan dua kali lipat bahkan hingga 20-100 kali dari kadar normal.

Kenaikan kadar enzim SGPT yang sangat tinggi yang disertai adanya kenaikan enzim SGOT merupakan indikator yang menunjukan adanya kerusakan hati yang parah. Pada kasus kerusakan hati yang berlangsung lama akan menimbulkan penurunan kadar enzim tersebut. Hal ini diakibatkan karena terjadinya kerusakan pada membran sel hepatosit sehingga sebagian enzim dapat keluar melalui membran sel (Price dan Wilson, 1995).

Pengujian toksisitas yang dilakukan pada hewan percobaan juga menunjukkan hasil yang dapat dikonversi pada manusia. Menurut Jaffri *et al.* (2007), kenaikan kadar

enzim SGPT hingga 1.5 kali lipat dari normal pada pasien laki-laki dan perempuan menunjukkan hepatitis akut. Perlstein *et al.* (2008) menyatakan, kadar total bilirubin pada manusia yang melebihi dari 2.0 mg/dl, serta peningkatan kadar enzim SGPT atau SGOT lebih dari dua kali lipat mengindikasikan penyakit hati.

Kadar bilirubin dalam serum darah merupakan salah satu indikator yang baik dalam pengujian fungsi hati. Bilirubin merupakan produk akhir dari metabolisme heme. Menurut Bigoniya *et al.* (2009) kenaikan kadar bilirubin dalam serum darah mengindikasikan kerusakan hati kronis, bukan kerusakan hati akut.

Kadar bilirubin total tikus *Sprague dawley* menurut River (2011) adalah 0.24 mg/dl. Menurut Petterino dan Storino (2006), hasil uji kadar bilirubin total tikus *Sprague dawley* memiliki nilai minimum 0 mg/dl dan nilai maksimum 5.1 mg/dl. Derelanko (2008), menyatakan bahwa hasil pengukuran kadar bilirubin total tikus galur *Sprague dawley* normal memiliki kisaran 0.2-0.4 mg/dl.

Hasil uji statistik ($\alpha = 0.05$) menunjukkan bahwa dosis ekstrak buah bakau hitam tidak memberikan pengaruh terhadap kadar bilirubin. Ekstrak buah bakau *R.mucronata* memiliki kandungan flavonoid serta antioksidan yang tinggi. Aktivitas senyawa antioksidan yang terdapat dalam ekstrak diduga mampu melindungi sel darah merah dari oksidasi dan kerusakan lainnya sehingga umur darah akan tetap normal, akibatnya kadar bilirubin total serum tetap rendah. Menurut Patel *et al.* (2010), ekstrak etanol dari *Tephrosia purpurea* memiliki kandungan flavonoid dan antioksidan yang berpotensi sebagai obat penyakit kuning (*jaundice*)/liver.

Bilirubin merupakan produk akhir dari metabolisme darah. Serum ini memiliki pigmen bile yang dapat secara langsung terlihat pada glikosida hewan. Peningkatan kadar bilirubin menandakan adanya *hepatic glycosyl transferase* (Kramer 1980). Syabana (2010) menyatakan, peningkatan kadar

bilirubin total mengindikasikan adanya penyumbatan pada saluran empedu atau adanya batu empedu.

Hasil uji statistik ($\alpha = 0.05$) menunjukkan bahwa dosis ekstrak buah bakau hitam tidak memberikan pengaruh terhadap kadar BUN. Kadar BUN pada tikus penelitian masih termasuk dalam kategori normal. Menurut Shayne (2007) hasil uji kadar BUN pada tikus *Sprague dawley* normal adalah 15.5 mg/dl. Finco (1980), bahwa kadar normal BUN pada hewan domestik seperti domba, kambing, kuda, dan sapi biasanya berkisar 10-30 mg/dl dan kadar kreatinin 1-2 mg/dl.

Hasil uji statistik ($\alpha = 0.05$) menunjukkan bahwa dosis ekstrak buah bakau hitam tidak memberikan pengaruh terhadap kadar kreatinin. Kadar kreatinin untuk tikus penelitian masih termasuk dalam kategori normal. Menurut Derelanko (2008), standar kadar kreatinin pada tikus galur *Sprague dawley* adalah 0.3-0.8 mg/dl.

Hasil uji serum darah terhadap kadar kreatinin dan BUN masih dalam batasan yang normal, sehingga pemberian ekstrak buah bakau tidak menyebabkan terjadinya gangguan pada ginjal tikus percobaan secara biokimia. Menurut Derelanko (2008), bahwa peningkatan kreatinin dan BUN secara bersamaan dapat mengindikasikan gangguan filtrasi ginjal. *Blood urea nitrogen* (BUN) merupakan produk akhir dari katabolisme protein. Kreatinin merupakan produk akhir dari metabolisme kreatin dalam otot. Kadar BUN dan kreatinin dapat meningkat jika terjadinya gangguan pada renal atau glomerulus.

Menurut Vetstreet (2011), kadar BUN menunjukkan kadar urea dalam darah. Urea merupakan salah satu produk pembuangan tubuh. Urea dihasilkan ketika hati memetabolisme protein dan dieliminasi oleh tubuh melalui ginjal. Tubuh akan mempertahankan urea dalam darah agar tetap normal, sehingga hati dan ginjal harus memiliki fungsi yang baik.

Menurut Xiao *et al.* (2010), urea merupakan produk akhir L-arginin dalam hati pada proses arginase. Sintesis L-arginin

merupakan tujuan utama metabolisme tubuh untuk mengeliminasi kandungan nitrogen non esensial dari dalam tubuh. Urea akan didistribusikan didalam air dan diekskresikan oleh ginjal. Kadar urea dapat menggambarkan fungsi renal, jumlah protein yang masuk dalam tubuh setiap hari, dan tingkat hidrasi pada mamalia.

Saka *et al.* (2012) menyatakan, kadar kreatinin merupakan kalkulasi dari konsentrasi kreatinin dalam urin, serum darah, dan laju aliran urin pada pembuangan urea. Kadar kreatinin digunakan untuk menentukan laju filtrasi glomerulus ginjal serta fungsi ginjal, sehingga konsentrasi plasma kreatinin dan urea dapat digunakan sebagai indikator nefrotoksisitas.

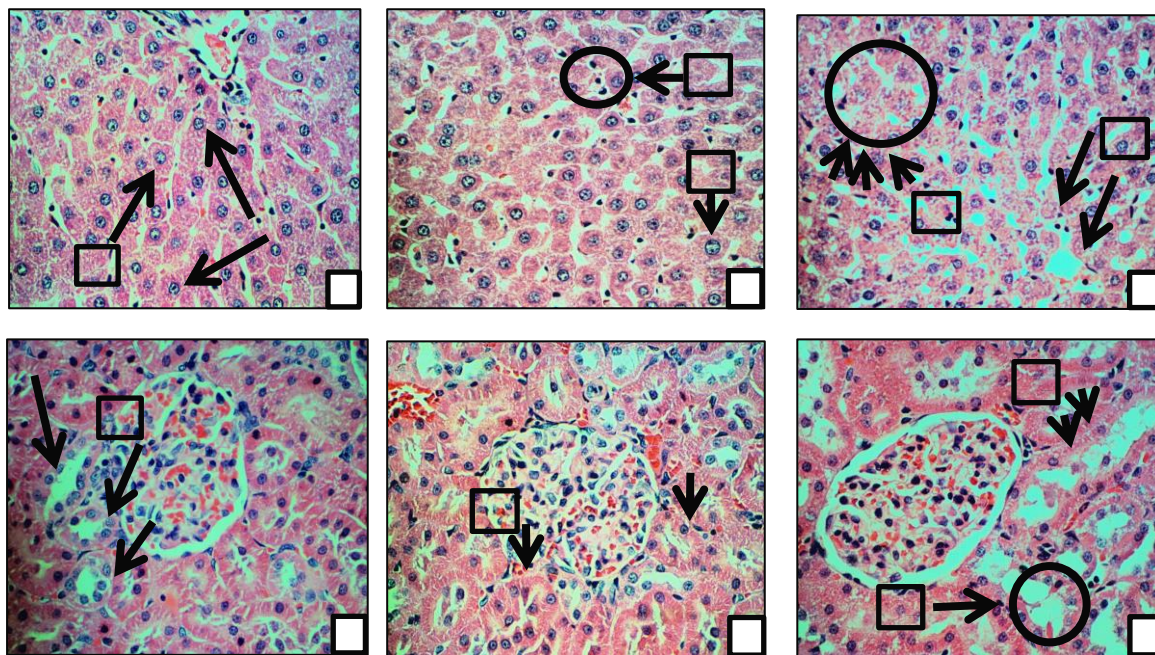
Gambaran Histopathologi Hati dan Ginjal

Gambaran histopathologi tikus disajikan pada Gambar 2. Histopathologi tikus kontrol menunjukkan hepatosit yang utuh, bentuk inti sel yang hampir sama, dan vena sentralis berbentuk normal. Gambaran histopathologi hati menunjukkan bahwa pemberian ekstrak buah bakau dosis 15 mg/kg BB mengakibatkan adanya pembesaran inti sel dan aktivasi sel kupffer. Pembesaran inti sel dapat diindikasikan sel mengalami degenerasi. Aktivasi sel kupffer dapat disebabkan tubuh merespon adanya zat asing (obat) yang masuk ke dalam tubuh dan melakukan perlawanan terhadap zat tersebut. Menurut Recanelli dan Rehemann (2006), sel kupffer merupakan kelompok terbesar dari makrofag dalam tubuh dan berfungsi untuk membersihkan endotoksin dalam darah serta mengikat zat asing atau mikroorganisme. Sel kupffer merupakan kunci dari sistem kekebalan tubuh tahap awal.

Gambaran histopathologi hati menunjukkan pemberian ekstrak buah bakau dosis 105 mg/kg BB mengakibatkan dilatasi sinusoid dan degenerasi sel. Suatu zat kimia dapat mempengaruhi perubahan kimia pada membran sel sehingga dapat menyebabkan pecahnya membran sel. Degenerasi sel dapat ditandai dengan perubahan bentuk susunan sel yang

abnormal. Perubahan ini dapat ditandai dengan membesar atau mengecilnya inti sel, bahkan hepatosit dapat kehilangan intinya. Dilatasi sinusoid ditandai dengan pelebaran parit-parit sel hati. Dilatasi sinusoid dikenal sebagai nekrosis multifokal. Degenerasi sel sering diartikan sebagai kehilangan struktur

normal sel sebelum kematian sel. Hal tersebut menandakan pemberian ekstrak dosis 105 mg/kg BB menyebabkan adanya gangguan metabolisme yang meluas pada hewan percobaan.



Keterangan: (N) Hepatosit normal, (I) inti sel mebesar, (K) aktivasi sel kupffer, (DI) dilatasi sinusoid, (DE) degenerasi sel. Pewarnaan H&E, objektif 40x. Keterangan: (N) normal tubulus, (D) degenerasi sel tubulus, (EP) endapan protein.

Gambar 2. Gambaran histopatologi hati tikus (A) tikus kontrol, (B) pemberian dosis 15 mg/kg BB, (C) pemberian dosis 105 mg/kg BB. Gambaran histopatologi ginjal tikus (D) tikus kontrol, (E) pemberian dosis 15 mg/kg BB, (F) pemberian dosis 105 mg/kg BB.

Figure 2. The histopathology of rats liver. The dose of treatment were (A) 0 mg/kg BB, (B) 15 mg/kg BB, (C) 105 mg/kg BB; The histopathology of rats kidney. The dose of treatment were (D) 0 mg/kg BB, (E) 15 mg/kg BB, (F) 105 mg/kg BB.

Degenerasi dalam patologi dapat didefinisikan sebagai kehilangan struktur dan fungsi normal sel. Degenerasi merupakan gangguan metabolisme sel dimana berikatan erat dengan kematian sel.

Sel akan berusaha mempertahankan diri melalui mekanisme adaptasi sel, namun bila limit respon adaptif terhadap rangsangan sudah terlampaui atau bila sel terpapar terhadap stress dan stimulus tertentu, sel akan mengalami serangkaian perubahan yang diistilahkan dengan jejas sel. Jejas sel dapat bersifat *reversible* atau

irreversible, tergantung pada jenis, lama, dan kerasnya penyebab, status, dan kemampuan adaptasinya (Crawford, 2005).

Menurut Ravikumar dan Gnedesigan (2012), senyawa fenolik seperti flavonoid dan tanin pada tumbuhan bakau *Rhizophora mucronata* memiliki kandungan antioksidan yang dapat memelihara stabilitas membran sel hati, meningkatkan proses regenerasi sel, hati dengan cara mereduksi senyawa radikal bebas, dan mempercepat mekanisme perbaikan membran sel yang rusak. Hasil

penelitian Suganthy *et al.* (2014), ekstrak metanol daun bakau *R. mucronata* pada dosis 1000 mg/kg BB yang diberikan pada hewan coba tikus *Wistar* selama 28 hari menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan pada parameter biokimia darah serta gambaran histopathologi yang normal.

Hasil pemberian ekstrak buah bakau dosis 105 mg/kg BB menyebabkan adanya endapan protein dan degenerasi hialin pada sel tubulus. Menurut Wagner *et al.* (2007), jika tubuh setiap hari mengkonsumsi protein dalam jumlah yang tinggi, maka ginjal akan bekerja lebih keras untuk mengeluarkan kelebihan urea agar tidak meracuni tubuh dan jika proses tersebut berlangsung terus menerus maka akan merusak fungsi ginjal.

Hasil penelitian Syabana (2010) menunjukkan, pemberian ekstrak buah murbei pada dosis 0.1 mg/kg BB dan dosis 1 mg/kg BB mengakibatkan adanya endapan protein dalam ginjal hewan coba. Endapan protein dapat mengindikasikan adanya kebocoran membran filtrasi mengakibatkan masuknya protein. Protein terlalu banyak diloloskan saat filtrasi mengakibatkan peningkatan beban ginjal dalam mereabsorpsi, akibatnya akan mempersempit celah ruang Bowman. Endapan protein yang tidak diikuti oleh adanya degenerasi hialin tidak mengakibatkan peningkatan gangguan tubulus.

Secara keseluruhan pemberian ekstrak hipokotil buah bakau *R. mucronata* pada dosis 15 mg/kg BB tidak memberikan efek pajanan yang signifikan. Pemberian dosis 105 mg/kg BB pada kelompok tikus percobaan menunjukkan adanya perubahan gambaran histopatologi hati dan ginjal tikus.

Secara keseluruhan, hasil uji biokimia darah dan gambaran histopatologi hati dan ginjal tikus percobaan dapat terlihat bahwa pemberian ekstrak buah bakau *R. mucronata* pada dosis 15 mg/kg BB lebih aman daripada ekstra dosis 105 mg/kg BB.

Simpulan

Hasil uji toksisitas sub akut pemberian ekstrak hipokotil buah bakau *R. mucronata* menunjukkan tidak terdapat perubahan karakteristik fisik dan profil biokimia darah pada seluruh kelompok tikus yang diberi perlakuan. Pemberian ekstrak buah bakau *R. mucronata* ($\alpha = 0.05$) tidak mempengaruhi kadar serum darah SGOT, SGPT, bilirubin total, BUN, dan kreatinin. Gambaran histopatologi hati pada pemberian ekstrak dosis 105 mg/kg BB menunjukkan terjadinya degenerasi serta dilatasi sel hepatosit, serta pengendapan protein dan degenerasi sel tubuli pada ginjal tikus percobaan. Dosis 15 mg.kg⁻¹ BB menunjukkan adanya aktivasi sel kupffer serta terjadinya degenerasi sel hepatosit, namun pada gambaran histopatologi ginjal tidak terjadi perubahan. Ekstrak buah bakau *R. mucronata* pada dosis 15 mg.kg⁻¹ BB lebih aman sebagai bahan nutrasetika.

Daftar Pustaka

- [WHO] World Health Organization. 2012. Hepatitis countries area at risk [Internet]. [diunduh 2013 Jul 15]. Tersedia pada: www.who.int
- Adnin, M.N. 2014. Efek fotoprotektif buah bakau (*Rhizophora mucronata* Lamk.) pada tabir surya dengan penambahan karaginan. [Skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Bandaranayake, W.M. 1998. Traditional and medical uses of mangroves. *Mangroves and Salt Marshes* 2: 133-148
- Bigoniya, P., C.S. Singh, A. Shukla. 2002. A comprehensive review of different liver toxicants used in experimental pharmacology. *Int. J. Pharm. Science and Drug Research* 1(3): 124-135.
- River. 2011. Clinical Laboratory Parameters for CrI:CD[®](SD) Rats. www.criver.com (21 Juno 2014).
- Crawford, J.M. 2005. *Liver and billiary tract*, Abbas VK, Abbas AK, Fausto

- N, Editor. Philadelphia(US): Elsevier Saunders.
- Derelanko, M.J. 2008. The toxicologist's pocket handbook-second edition. New York: CRC Press.
- Jaffi, M.S.A, A.S.Rahman, M.F. Sattar, M.A. Khattak. 2007. Effectiveness of silymarin in acute hepatitis. *Pakistan Journal of Pharmacology* 24(2): 1-5.
- Kiernan, J.A. 1990. Histological and Histochemical Methods. Theory and Practice. Ed. Ke-2. Canada(AF): Pergamon Press.
- Kramer, J.W. 1980. *Clinical Enzymology*, Kaneko JJ, Editor. California(US): Academic Press.
- Lu, C.F. 1995. *Toksikologi dasar: asas, organ sasaran, dan penilaian resiko. Edisi ke-2*. Jakarta(ID): UI press. Terjemahan dari: *Basic Toxicology: fundamentals, target organs, and risk assesment*.
- Panjaitan, R., E.Handharyani, Chairul, Masriani, U.Zakiah, Manaliu 2. 2007. Pengaruh pemberian karbon tetraklorida terhadap fungsi hati dan ginjal tikus. *Makaira Kesehatan*. 11(1): 11-16.
- Patel, A. dan N.M.Patel. 2010. Estimation of flavonoid, polyphenolic content and in-vitro antioxidant capacity of leaves of Tephrosia purpurea Linn. *J of Pharm.Sci and Research*.1(1):66-77.
- Perlstein, T.S, R.L. Pande, J.A.Beckman, M.A.Creager. 2008. Serum total bilirubin level and prevalent lower-extremity peripheral arterial disease: National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 1999 to 2004. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 28: 166-172.
- Petterino, C, A.A. Storino. 2006. Clinical chemistry and haematology historical data in control Sprague-Dawley rats from pre-clinical toxicity studies. *Experimental and Toxicological Pathology* 57: 213-219.
- Price, S.A. dan L.M.Wilson. 1995. Patofisiologi Konsep Klinik Proses-proses Penyakit. Ed ke-1. Dharma A, penerjemah. Jakarta (ID): EGC Penerbit Buku Kedokteran. Terjemahan dari: Pathophysiologi
- Purwaningsih, S., E.Salamah, A.Y.P.Sukarno, E.Deskawati. 2013b. Aktivitas antioksidan dari buah mangrove (*Rhizophora mucronata* Lamk.) pada suhu yang berbeda [siapa terbit].
- Purwaningsih, S., E.Sallamah, A.Y.P.Sukarno, E. Deskawati. 2014. Aktivitas Antioksidan dari buah mangrove (*Rhizophora mucronata*) pada suhu yang berbeda. *J.Teknologi Hasil Perikanan Indonesia*. Vol 16 (3): *In process*.
- Radji, M. 2010. Imunologi dan Virologi. Edisi Pertama.Jakarta (ID):PT.ISFI Penerbitan.
- Ravikumar, S, M. Gnanadesigan. 2012. Hepatoprotective and antioxidant properties of rhizophora mucronata mangrove plant in CCl4 intoxicated rats. *J exp Clin Med*. 4(1): 66-72.
- Recanelli, V., B. Rehemann. 2006. The liver as an immunological organ. *Hepatology* 43(2):1.
- Saka, W.A, R.E.Akhigbe, O.T.Popoola, O.S.Oyekunle. 2012. Changes in serum electrolytes, urea, and creatinine in *Aloe vera*-treated rats. *Journal of Young Pharmacy* 4(2): 78-81.
- Shayne, C.C. 2007. Animal Model in Toxicology. Boca Raton: CRC Press
- Steel, R.G.D, J.H Torrie. 1993. *Prinsip dan Prosedur Statistika :Suatu Pendekatan Biometrik edisi ketiga*. Penerjemah : Bambang Sumantri, PT Gramedia Pustaka Utama. Terjemahan :*Principles and Procedures of Statistics*.
- Suganthi, N., K.Karthikeyan, G.Archunan, S.K.Pandian, K.P.Devi. 2014. Safety and toxicological evaluation of *Rhizophora mucronata* (a mangrove from Vellar estuary, India): assessment of mutagenicity, genotoxicity and in vivo acute

- toxicity. *Mol Biol Rep* :DOI 10.1007/s11033-013-2981-9
- Sukarno, A.Y.P. 2014. Efek Hepatoprotektif Ekstrak Etanol Buah Bakau (*Rhizophora mucronata* Lamk.) pada Tikus Putih Galur Sprague Dawley Secara *In Vivo*. [Skripsi].Bogor(ID): Institut Pertanian Bogor.
- Syabana, M.A. 2010. Toksisitas akut dan subkronis ekstrak air buah murbei (*Morus alba l.*) pada tikus Sprague dawley. [Tesis].Bogor(ID): Sekolah Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Vetstreet. 2011. BUN and creatinine levels. www.vetlearn.com (25 Juni 2014).
- Wagner, E.A., G.A. Falgicia, H.Amlal, L.Levin, M.Soleimani. 2007. Short-term exposure to a high-protein diet differentially affect glomerular filtration rate but not acid-base balance in older compared to younger adults. *J American Dietetic Assoc* 107: 765-773.
- Xiao, S., A.Erdely, L.Wagner, C.Baylis. 2010. Uremic levels of BUN do not cause nitric oxide deficiency in rats with normal renal function. *Am J Physio Renal Physiol* 280: F996-F1000.